ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO
Direttore: Prof. A. MAGGIORA-VERGANO

Gli attuali criterî per il controllo igienico del latte

Comunicazione fatta al Convegno interregionale della Sezione Piemontese della Soc. Ital. di Pediatria, tenutasi a Oropa il 21 maggio 1933-XI.

Dott. **CARLO F. CERRUTI**, Aiuto e libero docente

Estratto dal *Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene e della Sezione Milanese dell'Ass. Fascista per l'Igiene* - Anno LV - 30 Settembre 1933 - Fasc. 9°

MILANO
STAB. TIP. DITTA F. FOSSATI
1933

All'Illustre Professor G. Vanzetti
Con animo devoto
C. F. Cerruti

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO
Direttore: Prof. A. MAGGIORA-VERGANO

Gli attuali criterî per il controllo igienico del latte

Comunicazione fatta al Convegno interregionale della Sezione Piemontese della Soc. Ital. di Pediatria, tenutasi a Oropa il 21 maggio 1933-XI.

Dott. CARLO F. CERRUTI, Aiuto e libero docente

Estratto dal *Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene e della Sezione Milanese dell'Ass. Fascista per l'Igiene* - Anno LV - 30 Settembre 1933 - Fasc. 9°

MILANO
STAB. TIP. DITTA F. FOSSATI
1933

L'elogio del valore alimentare del latte non è più da fare. Esso è l'alimento ideale per il lattante e per il bambino, ed è ottimo anche per gli adulti. Infatti esso contiene tutti gli elementi essenziali per una dieta equilibrata e rappresenta uno degli alimenti più completi ed al tempo stesso economici che la natura ed il mercato ci offrano.

Non è superfluo riaffermare che il latte, quando sia prodotto da mucche perfettamente sane, mantenute in ottime condizioni di pulizia e di alimentazione, quando, munto pulitamente da persona sana, sia raffreddato e filtrato subito dopo la mungitura e distributo nel più breve spazio di tempo possibile al consumatore, dopo aver subìto insomma il minor numero di manipolazioni e contatti, è il migliore che si possa desiderare. D'altra parte le condizioni in cui si svolgono abitualmente da noi la produzione, il trasporto e la distribuzione di questo alimento sono ben lontane da quelle che sarebbero necessarie per averlo del tutto rispondente ai requisiti igienici che il consumatore ha diritto di pretendere. Il latte poi è esposto ad alterazioni intenzionalmente provocate nella sua composizione, di cui principali sono l'annacquamento e la scrematura, mentre altre sofisticazioni quali l'aggiunta di sostanze conservative e, sopratutto, di sostanze atte a mascherare l'avvenuta scrematura, hanno ormai più

che altro soltanto interesse storico. È tuttavia interessante rilevare come la nozione di « frode », di « alterazione » si sia andata modificando ed estendendo sotto la spinta della più esatta conoscenza delle peculiari proprietà nutritive del latte e dei pericoli che esso può offrire per la salute dei consumatori, quando la sua produzione e la sua vendita non siano circondate dalle opportune cautele.

In un primo tempo l'attenzione del legislatore si è polarizzata sulla difesa della integrità chimica del latte, ed i rigori della legge si sono appuntati quasi esclusivamente alla repressione delle variazioni prodotte ad arte nella composizione del latte. In altre parole il legislatore non si preoccupava d'altro se non che il latte giungesse al consumatore con gli stessi elementi chimici che lo costituivano al momento della mungitura, senza preoccuparsi minimamente dello stato di salute dell'animale produttore o delle condizioni di pulizia in cui si era svolta la produzione, il trasporto e la distribuzione del prezioso alimento. Questi concetti informarono naturalmente anche l'opera di chi era incaricato della vigilanza e repressione delle frodi nel commercio del latte, che limitò le sue indagini alla determinazione delle sostanze grasse e del residuo solido magro, giudicando in base a questi soli dati dell'integrità ed anche dell'innocuità del latte.

Il considerare il latte semplicemente come la risultante della mescolanza di un certo numero di sostanze chimiche, relativamente ben definite nei loro caratteri e rapporti percentuali, non risponde alla realtà e può essere fonte non indifferente di errori. È noto infatti come i principali componenti del latte vadano soggetti ad ampie oscillazioni dovute a due diversi ordini di fattori: l'uno legato alla razza ed alla individualità dell'animale lattifero; l'altro dipendente dalle condizioni ambientali, di alimentazione, di clima, di regime, ecc. Cosicchè la semplice determinazione dei rapporti percentuali delle materie grasse e proteiche, dei sali, del lattosio, non ci permette di svelare che le frodi più grossolane.

Oggi noi sappiamo che il latte può costituire sia una seria fonte d'infezione per l'uomo per l'eventuale presenza del b. della tubercolosi bovina, degli streptococchi dell'angina settica, dei germi dell'aborto epizootico e della febbre ondulante, del virus dell'afta epi-

zootica, sia un veicolo di trasmissione, in seguito ad accidentale contaminazione col b. della tubercolosi umana o col b. della difterite, col virus della scarlattina, con i b. della dissenteria, della febbre tifoide e del gruppo dei paratifi. Sappiamo inoltre che lo stato di salute dell'animale influisce notevolmente sulla composizione del latte, e sopratutto sappiamo che gli stati infettivi della mammella si ripercuotono con tutta una serie di alterazioni relativamente caratteristiche sulla composizione chimica del latte. Sappiamo pure che il latte è un ottimo terreno colturale e che, oltre ai germi patogeni or ora menzionati, può raggiungerlo per altre vie (mani del mungitore, pulviscolo delle stalle, delle latterie, recipienti non puliti) un gran numero di germi saprofiti che, moltiplicandosi attivamente, lo alterano, specialmente acidificandolo.

Per tutti questi motivi si è fatto rapidamente strada il concetto che la vigilanza sul latte non deve limitarsi alla ricerca dell'annacquamento o della scrematura, ma spingere la sorveglianza anche intorno alle condizioni igieniche nelle quali esso è prodotto, manipolato, trasportato e distribuito per far sì che il consumatore sia sicuro d'acquistare un prodotto genuino che risponda per valore nutritivo e salubrità ai caratteri essenziali del latte proveniente da mucche sane e ben tenute.

Da quanto si è detto viene di conseguenza che per formulare un giudizio sulla qualità di un latte bisogna conoscerne i caratteri fisico-chimici, batteriologici e sanitari.

La determinazione delle sostanze grasse, del residuo secco magro e dell'indice crioscopico, per quanto lascino adito ad incertezze e permettano ancora, entro certi limiti, la frode, sono quanto di meglio abbiamo per svelare la scrematura e l'annacquamento.

La determinazione quantitativa dei germi presenti nel latte, a prescindere dal loro potere patogeno, può servire come indice delle cure avute per evitare le contaminazioni del latte dal momento della mungitura a quello della consegna al consumatore. Se il latte proviene da vacche sane, se è stato filtrato e refrigerato a 6° - 10° C. subito dopo la mungitura, messo in recipienti sterili a chiusura ermetica, mantenuto sempre a bassa temperatura durante le operazioni di trasporto e distribuzione, contiene un numero relativamente basso di

germi per cc. (50.000-200.000 per cc.), mentre se tutte queste operazioni si sono svolte senza alcuna cautela, è facile che la carica batterica raggiunga cifre imponenti.

La numerazione dei germi si può fare in due modi: o direttamente con l'esame microscopico o indirettamente con la cultura su piastra.

Il nostre Istituto ha adottato a questo scopo i metodi raccomandati dall'Associazione Americana di Salute Pubblica. Per il conteggio microscopico diretto si distende su di un porta-oggetti e per una superficie di 1 cmq. 1/100 di cc. di latte prelevato con pipetta calibrata. Si lascia essiccare, quindi si fissa e colora lo striscio in un sol tempo immergendo il vetrino per pochi secondi nella seguente soluzione colorante:

Bleu di metilene	gr.	1
Alcool a 95°	cc.	54
Tetracloroetano	»	40
Acido acetico glaciale . . .	»	6

Si lava con acqua e si asciuga.

Per eseguire il conteggio occorre un microscopio regolato in modo che ciascun campo abbia un diametro di mm. 0,205, così da coprire una superficie di circa 1/3000 di cmq.

Di solito si contano 30 campi microscopici e si moltiplica il numero ottenuto per 10.000.

Il metodo culturale richiede un terreno della composizione seguente:

Agar	gr.	15
Estratto di carne	»	3
Peptone Witte	»	5
Acqua distillata	»	1000

La reazione finale del terreno può oscillare tra pH 6,2 e 7,0.

Per le semine occorre preparare prima varie diluizioni del latte in esame, a 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10000 ed oltre. Le diluizioni si fanno in acqua distillata sterile, contenuta in provette o piccoli matracci nella quantità esatta di 9 cc.

Si fanno due piastre per ogni diluizione mescolando, in scatola Petri da 10 cc., 1 cc. di ciascuna di esse con 10 cc. di agar sciolto

e mantenuto alla temperatura di 40°-45° C. Il conteggio si eseguisce dopo 48 ore di incubazione a 37° C., meglio se a luce artificiale e con l'aiuto di una lente d'ingrandimento.

Il numero dei germi che si ottiene con la numerazione su piastra sta a quello ottenuto col conteggio diretto come 1 : 4. Questo divario dipende dal fatto che con l'esame microscopico diretto si tien conto anche dei germi morti e degli ammassi di stafilococchi, streptococchi et similia, che coltivati danno luogo allo sviluppo di una sola colonia.

Con questi due metodi ci si può fare un'idea approssimativa dell'entità della carica batterica di un latte. Ma se non bisogna attribuire soverchio valore ai dati numerici che in tal modo si ottengono, perchè troppe sono le cause che influiscono sui risultati finali, si deve tuttavia riconoscere a tali metodi il merito di aver permesso una classificazione delle varie qualità di latte offerte in vendita, e contribuito così notevolmente al miglioramento dell'approvvigionamento del latte nei centri che li hanno adottati.

Per i latti fortemente inquinati, come sono purtroppo quelli che abitualmente si distribuiscono nei nostri grandi centri urbani, sarebbe sufficiente servirsi del conteggio microscopico diretto, più rapido ed economico di quello culturale, che, a nostro avviso, si dovrebbe riservare solo per il controllo del latte cosidetto « da consumarsi crudo » e di quello pastorizzato o comunqne trattato.

Per queste ultime qualità di latte sarebbe opportuno anche la *ricerca e titolazione del b. coli.* Si è molto discusso sulla possibilità o meno di ottenere un latte naturale privo di b. coli, e non è impossibile che con le opportune cautele e provvidenze igienico-zootecniche si raggiunga tale scopo, ma la nostra esperienza ci insegna che nel latte del mercato il b. coli è sempre presente ed in numero ragguardevole, il che sta ad indicare una contaminazione del latte da materie fecali.

Per la ricerca del b. coli noi usiamo il seguente terreno:

Acqua distillata	cc.	100
Lattosio	gr.	0,5
Peptone Witte	»	0,5
Estratto di carne (Lab Lemco) .	»	0,3

Si semina 1 cc. di latte in diluizioni crescenti 1 : 10, 1 : 100,

1 : 1000, 1 : 100000, ecc., in 10 cc. di tale brodo distribuito in provette contenenti sul fondo un tubicino capovolto per la raccolta dei gas che si possono formare durante lo sviluppo batterico per la fermentazione del lattosio. Dopo 24 ore di termostato a 37° si fanno strisci su piastre d'agar lattosato tornasolato o d'agar all'eosina-bleu di metilene dai tubi in cui si è svolto gas, per l'isolamento del b. coli.

La ricerca del b. coli come la numerazione dei germi su piastre è indispensabile per il controllo del latte pastorizzato o comunque trattato.

Accanto alle indagini per determinare la carica batterica e la presenza del b. coli si può fare la *ricerca degli streptococchi emolitici,* che per quanto non tutti debbano considerarsi come patogeni, tuttavia molti sono all' origine di fatti di mastite contagiosa nella vacca, e talvolta di forme settiche di angina nell' uomo. Tale ricerca si fa abitualmente strisciando cc. 0,1 di diluizioni scalari del latte da esaminare su piastre d'agar fegato aggiunto di violetto di genziana 1 : 150.000 e 5 °/₀ di sangue bovino. Si mette in termostato a 37° e dopo 36 ore si fa il conteggio delle colonie emolitiche.

Vi sono pure altri metodi d'indagine che permettono di stabilire indirettamente l'entità della carica batterica e le condizioni di pulizia e di igiene in cui si sono svolte le manipolazioni subite dal latte. Questi metodi sono la prova della reduttasi, della catalasi e dell' alcool-alizarina.

Prova della reduttasi. — Il latte crudo possiede delle proprietà riduttrici dipendenti probabilmente dall'attività dei batteri che esso contiene.

Schardinger dimostrò per il primo che la reduttasi presente nel latte era capace di ridurre più o meno rapidamente il bleu di metilene nella sua leucobase in presenza di un aldeide.

Si aggiunge a 10 cc. di latte 1 cc. di una soluzione acquosa di bleu di metilene, in modo d'avere una concentrazione finale della sostanza colorante 1 : 200.000 e si ricopre con uno strato di olio di paraffina. Si tiene la provetta con la miscela a bagno-maria a 37° e si leggono ad intervalli di mezz'ora i risultati, segnando il tempo trascorso sino al momento della scomparsa totale della colorazione bleu.

Questa prova permette di esaminare rapidamente un gran numero

di campioni di latte e determinarne con sufficiente esattezza la qualità dal punto di vista igienico.

Un latte si deve considerare *buono* quando la decolorazione avviene in più di due ore e mezzo, *mediocre* quando si decolora dopo non meno di due ore; *cattivo,* se si decolora in capo a due ore, ma non in meno di 20'; *molto cattivo,* se la decolorazione si verifica in poco più di 20'.

Siccome il latte bollito perde le sue proprietà riducenti si può impiegare la prova della riduttasi anche per sapere se un latte è stato o non bollito.

Prova della catalasi. — Nel latte di mucca è presente la catalasi, in quantità variabile con l' alimentazione e le caratteristiche individuali dell'animale. La catalasi non è un vero e proprio fermento ossidante, ma decompone l'acqua ossigenata e, in presenza di questa, ossida un numero rilevante di sostanze facilmente ossidabili. Si è osservato che la presenza di germi e di leucociti aumenta il contenuto del latte in catalasi e si è cercato perciò di giovarsi della determinazione quantitativa della catalasi come mezzo per riconoscere indirettamente la carica batterica del latte e sapere altresì se esso proviene da un animale affetto da mastite.

Il latte normale contiene una quantità relativamente costante di catalasi e, secondo Koning, 100 grammi di latte crudo possono decomporre 110 mgr. di acqua ossigenata in due ore. La produzione della catalasi raggiunge il suo optimum alla temperatura di 37°. Temperature più elevate, e specialmente quelle di 65°-70° per mezz'ora, sono sufficienti a distruggere la catalasi nel latte. Questo fatto permette di svelare se un latte è stato trattato col calore.

Prova dell' alcool-alizarina. — Tra le varie cause naturali di alterazione del latte, l'attività biochimica dei batteri ch'esso contiene è forse la più importante. A seconda delle specie microbiche predominanti nel latte si ha formazione di acidi o di alcalini. Normalmente il latte, lasciato a sè, a temperatura ambiente (18°-25°) acidifica per formazione di acido lattico in seguito alla scissione del lattosio per opera dei fermenti batterici, e successivamente coagula per precipitazione della caseina dalla complessa combinazione che la tiene legata al fosfato di calcio ed agli altri sali solubili di calcio. L'alca-

linizzazione del latte avviene principalmente quando esso proviene da animali colpiti da mastite infettiva o comunque malati. Le infezioni della mammella inducono una serie notevole di alterazioni nella composizione fisico-chimica del latte e principalmente una diminuzione nel tenore dei fosfati potassici, dai quali dipende in gran parte l'acidità attuale del latte (Porcher).

Questi pochi cenni sono sufficienti a far risaltare l' importanza della determinazione della concentrazione degli idrogenioni del latte, come mezzo per svelarne le qualità igieniche e commerciali.

Non v'ha perfetto accordo tra i vari autori su quello che deve ritenersi il valore normale del pH del latte bovino, perchè esso dipende da un numero troppo grande di variabili di non facile controllo, ma di regola il pH del latte bovino, appena munto da vacche sane, si aggira intorno al valore di 6,6. Quando un campione di latte presenta valori di pH che si allontanano in un verso o nell'altro da quello normale, ciò significa che il latte è stato secreto da una mammella ammalata e alterato dalle fermentazioni microbiche e non è più adatto all' alimentazione umana e, in certi casi, anche all' industria casearia.

In ricerche comparative eseguite su centinaia di campioni di latte si è potuto osservare che i risultati del conteggio microbico e delle prove della riduttasi e della catalasi vanno di pari passo con quelli desunti dalla determinazione dell'acidità attuale del latte.

La determinazione del pH si può fare facilmente e con sufficiente esattezza servendosi dei metodi colorimetrici. Tra i vari indicatori raccomandati è preferibile usare l' alizarina in soluzione alcoolica 0,15 °/₀ (alcool a 70°) satura, neutralizzata con poche gocce di soluzione normale di carbonato sodico, in modo da farle raggiungere una tinta vino di Barolo. Per la prova si mescolano parti uguali di latte e di indicatore (per es. 4 cc. di latte + 4 cc. di indicatore) e si confronta la tinta assunta dal latte con quelle campioni della tavola del Morrès, leggendo il valore del pH corrispondente alla tinta ottenuta.

I valori del pH compresi nella zona di viraggio dal giallo al viola dell' alcool-alizarina vanno da pH 3,70 a pH 6,83, e questi limiti sono più che sufficienti per comprendere le oscillazioni nella

concentrazione degli idrogenioni cui va incontro abitualmente il latte del commercio.

L'esperienza ha dimostrato che quando il valore del pH di un campione di latte è maggiore di 6,8 o inferiore di 6,4, ciò corrisponde alla presenza di un numero rilevante di batteri e di leucociti non compatibile con la salubrità del latte stesso.

Il fatto poi che l' alizarina si trova in soluzione alcoolica ci permette di avere con la stessa prova preziosi ragguagli sullo stato di equilibrio fisico-chimico dei componenti minerali del latte in esame. La cosidetta « prova dell' alcool » che da tempo si impiega nell' industria del latte per riconoscere i latti acidi è più una prova di equilibrio dei sali che una prova di acidità (Porcher). Un latte sano mescolato in parti uguali con alcool a 70° conserva invariata la sua fluidità, mentre un'alterazione, sia pur minima, nei rapporti reciproci dei sali, specie di calcio, presenti nel latte, si rivela immediatamente con la comparsa di grumi risultanti dalla coagulazione della caseina.

In complesso la prova dell' alcool-alizarina, assai semplice da eseguire e di facile lettura nei suoi risultati, fornisce rapidamente dei dati assai preziosi per esprimere un giudizio sulle qualità igieniche e commerciali del latte e non dovrebbe mai essere trascurata nelle operazioni di controllo.

Prova di sedimentazione. — È raro che il latte non contenga sostanze estranee, provenienti dall' ambiente e dall' animale stesso. La presenza di queste impurità si mette facilmente in evidenza filtrando il latte attraverso tela o cotone, oppure centrifugando rapidamente. Entrambi questi mezzi conducono ad una depurazione più apparente che reale del latte, perchè rimangono in esso la quasi totalità dei batteri presenti prima del trattamento, nè d'altra parte la carica batterica è in diretto rapporto con le impurità grossolane, visibili, che si trovano abitualmente nel latte.

Questi trattamenti non migliorano gran che la qualità del latte, nè si debbono considerare sostitutivi della pastorizzazione o di qualsiasi altro trattamento che distrugga i batteri patogeni e riduca notevolmente il numero dei batteri saprofiti. Pur tuttavia la vista delle impurità o, per essere più chiari, del sudiciume trattenuto dal

filtro o raccolto con la centrifugazione parla con una tale evidenza agli occhi del pubblico, che si è ritenuto opportuno trarne partito per stimolare i produttori ad avere maggior cura della pulizia durante le operazioni di mungitura e raccolta del latte.

La prova di sedimentazione consiste nel filtrare in appositi apparecchi o anche in un semplice imbuto un mezzo litro di un campione di latte attraverso dei dischi di cotone appositamente preparati. Questi dischi, fatti essiccare, si classificano mettendoli a confronto con una serie di 5 dischi campione, ottenuti filtrando loro attraverso dei campioni di latte, ai quali erano state aggiunte a bella posta quantità progressivamente crescenti da mgr. 0,2 a mgr. 10 di impurità visibili simili a quelle solite a riscontrarsi nel latte.

Si comprende facilmente che se il latte in esame è già stato filtrato e centrifugato dal produttore la prova di sedimentazione non ha più ragione di essere.

Questa prova deve essere considerata più che altro un ottimo mezzo per attirare l'attenzione del pubblico sulle impurità che può contenere il latte e sull' origine fecale della maggior parte di esse, e per convincere i produttori della necessità evidente di migliorare i sistemi di produzione per evitare simili inconvenienti. Intesa in questo senso la prova di sedimentazione può rendere utilissimi servizi nel controllo igienico del latte, specie se combinata con un diligente servizio di ispezione sanitaria alle stalle ed ai centri di raccolta.

Il latte è il principale alimento dei bambini: ne promuove lo sviluppo, li protegge contro le malattie, specie quelle da carenza, a patto d' essere prodotto, raccolto e consumato in ottime condizioni igieniche.

La classe medica e specialmente i pediatri sono ben consci della grande influenza che il latte ha sulla salute dei bambini.

I metodi d'indagine che ho rapidamente esposto permettono di controllare dal laboratorio la presenza effettiva nel latte della maggior parte dei caratteri che ci rendono così prezioso questo alimento. Questi metodi sono risultati i migliori nelle molteplici prove pratiche comparative eseguite nel nostro Istituto e anche dai dati desunti dalla letteratura.

La vigilanza sul latte non si limita, ben inteso, a questi esami,

ma comprende anche il servizio di ispezione alle stalle, al bestiame, ai luoghi di raccolta e di distribuzione, la visita medica al personale, ecc., ma queste forme di sorveglianza sono integrate e sorrette dai dati raccolti con i metodi di indagine sovra descritti, che permettono di individuare e specificare deficienze che possono anche sfuggire alle ispezioni ed a semplici determinazioni chimiche. È perciò opportuno ed anche necessario che questi metodi d'indagine entrino nella pratica corrente dei nostri laboratori di vigilanza sanitaria, per contribuire al miglioramento della qualità del latte che si consuma.

BIBLIOGRAFIA.

BOFFA U.: « Igiene Moderna », n. 2, XXV, febb. 1932.
— « Atti Soc. Piemontese d'Igiene », sed. 5 marzo 1933.
BOTTAZZI F.: « Rassegna Clin. Scient. », n. 8, X, 15 agosto 1932.
CERRUTI C. F.: « Atti dell' VIII Congresso d' Igiene », Roma, ottobre 1932.
DI AICHELBURG U.: « Igiene Moderna », n. 8, XXVI, agosto 1933.
FINZI G.: « Profilassi », v. V, fasc. III, maggio-giugno 1932.
MASOERO P.: « Atti Soc. Piemontese d' Igiene », sed. 5 marzo 1933.
NERI F.: « La questione del latte e il problema dell' alimentazione ». - Discorso inaugurale nell' anno accademico 1931-1932 dell' Università di Firenze.
PORCHER: « Le lait », n. 114, aprile 1932.
WILSON G. C.: « Bull. Trimestr. Organ. d' Hygiène », S. D. N., 1, 681, 1932.
A. P. H. A.: « Standard Methods of Milk Analysis » (5th ed.), 1928.

(Da *Minerva Medica* del 22 settembre 1933).